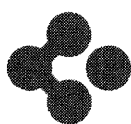


今日の話



ポリ- γ -グルタミン酸の環境適応因子としての機能 極限環境微生物が巧みに利用してきた機能を我々は応用できるか？

「納豆のネバネバ」が地球にやさしいプラスチックに、果ては砂漠の緑化にも使えるかも知れない!? そんな壮大で夢のような話しも、微生物の巧みな生き残り戦略を知れば、実はそれほど驚くことでもないように思えてくる。そもそも、納豆菌は何のために大量のネバネバを作るのか？ 生理学上きわめて重要なこの問いかけに対して、我々はごく最近までその答えをもち合わせていなかった。興味深いことに、ネバネバの機能を知るカギは極限環境(微)生物にあったのである。本稿では、環境適応因子としての「ネバネバ」の知見に触れ、またその生産システムについての最新情報も紹介する。

納豆のネバネバの主成分は、「味の素」の原料であるグルタミン酸(正確にはその光学異性体が主)が γ -カルボキシル基と α -アミノ基間のペプチド結合で長く連なったポリマーで、ポリ- γ -グルタミン酸(PGA)と呼ばれる。PGA生産菌としては納豆菌が代表格であるが、古細菌や多細胞真核生物でも生産されている(表1)。しかも、PGAがそれぞれの環境適応に重要な役割を果たしていることがわかってきた。

最近話題になった炭疽菌は、PGAの研究対象として古くから注目されてきた。本来毒性をもたないはずのPGAが炭疽菌と共存することによって、炭疽菌の毒性が極端に高くなるという現象が知られていたからである。本菌のPGA合成酵素遺伝子に関する詳細な研究から、PGAで細胞表面を覆うことで、哺乳動物の免疫網から巧みに逃れていることが判明した⁽¹⁾。これはPGAに免疫原性がないことに起因する。免疫能の高い生体内

は、炭疽菌にとっては一種の極限環境といえる。それゆえ、PGA合成酵素の阻害剤は、炭疽菌の特異的薬剤として期待できる。逆に、PGAの特性をうまく利用すれば、これまで期待されながら実用化には至っていない酵素薬剤で問題となってきた抗原性の解消が望める。さらに、PGAはプロテアーゼ耐性も有しているので、これらの血中での薬効持続時間も大きく改善できるはずである。PGAのドラッグキャリアーとしての有用性は、図らずも炭疽菌が証明していた。

好アルカリ性細菌 *Bacillus halodurans* は、その細胞壁の構成成分としてPGAを含む。最近、本菌のPGA欠損株はアルカリ適応性を失うことが示され⁽²⁾、酸性ポリマーであるPGAが、高アルカリ条件に曝されている細胞表面のpH恒常性を保つのに重要であることが示唆された。ところで、もう一つの面白さは、表1に示すように納豆菌のPGA(DL型)とは異なり、本菌はきわめて光学純度の高いPGA(L型)を作るという点である。通常、プラスチックの性能は素材となるポリマーの光学純度に大きく依存する。安全性の観点からも、本菌と、後述する好塩古細菌のPGAに大きな関心が集まりつつある。

最近、本菌の全ゲノム配列が公開され、先に筆者らが同定した納豆菌のPGA合成酵素複合体⁽³⁾とのホモログが見つかるものと期待された。ところが、実際にはそのような類縁酵素は存在せず、納豆菌とはまったく異なる機構でPGAが合成されていることが示唆された。筆者らは、PGAとは別のポリアミノ酸、すなわちシアノファ

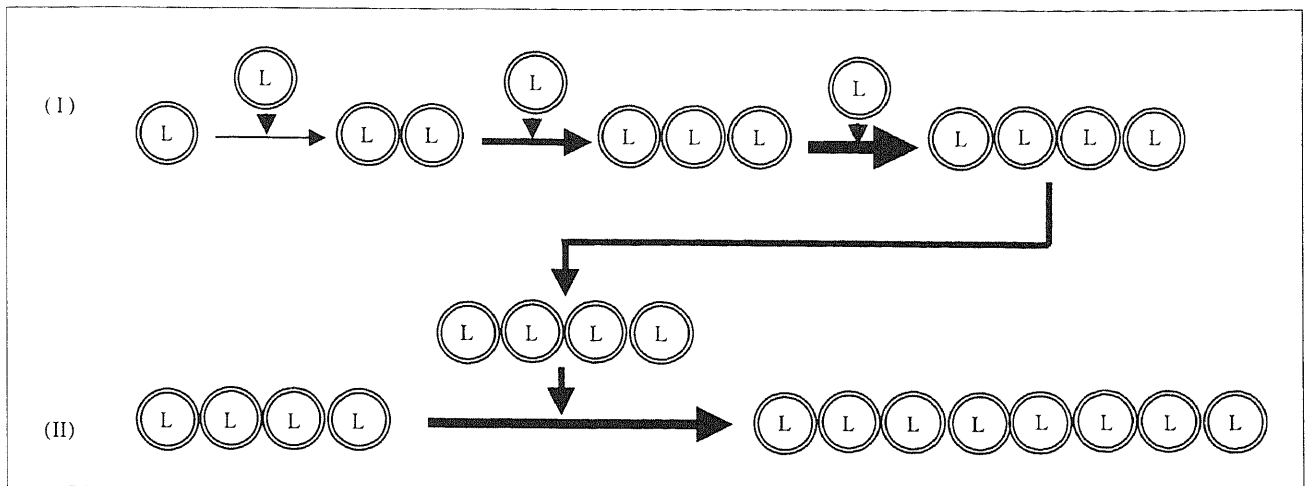


図 1 ■ *Bacillus halodurans* の推定ポリ-γ-L-グルタミン酸合成機構⁽⁴⁾

(I)にはPlg2酵素が触媒すると考えられる反応を、(II)にはPlg3酵素が触媒すると考えられる反応を図式化した。Plg2酵素が、ATP存在下でL-グルタミン酸からオリゴ-γ-L-グルタミン酸(低重合ペプチド)を合成する。それに続き、Plg3酵素がATP存在下でオリゴ-γ-L-グルタミン酸を基質に、ポリ-γ-L-グルタミン酸(高重合ペプチド)を合成する。

表 1 ■ ポリ-γ-L-グルタミン酸の構造的特徴と生産種⁽⁴⁾

生産種	分子質量	含有率(%)	
		D-グルタミン酸	L-グルタミン酸
<i>Bacillus subtilis</i> (natto)	10~1000	50~80	20~50
<i>Bacillus subtilis</i> (chungkookjang)	>1000	60~70	30~40
<i>Bacillus licheniformis</i>	10~1000	10~100	0~90
<i>Bacillus anthracis</i>	ND*	100	0
<i>Bacillus megaterium</i>	>200	50	50
<i>Bacillus halodurans</i>	10~15	0	100
<i>Natrialba aegyptiaca</i>	>1000	0	100
<i>Hydra</i>	3~25	0	100

*未同定

イシンの合成酵素に注目し、この酵素のアミノ基末端側ドメインと高い相同性を示す3つの機能未知タンパク質を見いだした⁽⁴⁾。これらをコードする *plg123* 遺伝子はオペロンを形成している。Plg2酵素はグルタミン酸依存性ATPアーゼ活性を、Plg3酵素はオリゴ-γ-L-グルタミン酸依存性ATPアーゼ活性を示した。PGA合成活性の解析結果も加味し、図1に示すような納豆菌のPGA合成機構⁽³⁾とはまったく異なる新しいPGA合成機構を提唱した。

好塩古細菌 *Natrialba aegyptiaca* は、巨大な分子質量をもつL型PGAを生産する(表1)。本菌は10%以上の塩を含む培地で生育可能であるが、PGAを生産するのは20%以上の塩を添加した場合に限られる。しかも、

液体培養よりも固体培養のほうが生産量は10倍以上高くなる。本古細菌は、高塩環境下で発生する脱水現象から巧みに身を守るためにPGAを生産していると考えられている⁽⁵⁾。実際、PGAの生産が認められるコロニーの周辺領域の水分は、たとえば40°Cで1か月以上放置しても良好に保たれている⁽⁴⁾。重要なのは、納豆菌のPGAは塩が共存すると極端に水分保持能が低下するのに対し、本古細菌のPGAは、高塩条件下でも高い水分保持能を維持できるという点である。このことは、好塩古細菌のPGAが吸水性を大きく高めるような特殊な分子構造を有している可能性を示している。PGAの高機能化(ポリマーデザイン)に有益な情報を与えてくれそうである。今後の詳細な構造解析が待たれる。

多細胞真核生物ではヒドラがL型PGAを生産することが知られている⁽⁶⁾。このPGAはCa²⁺などの生理活性ミネラルと共役して、浸透圧調節に関わっていることが判明した。

では、極限環境微生物ではない納豆菌や、その類縁菌である *Bacillus licheniformis* の場合はどうであろうか？ 実はまだはっきりとした答えは得られていない。ゲノム構成上納豆菌と同一である *Bacillus subtilis* 168は、PGAをほとんど生産しないという事実があり、これらのPGAの生理機能にはさほど注目が集まらなかったからである。最近、傍証ではあるが、その役割を推測させる報告が増えてきた。PGAには不凍効果が知られ

ていたが、*B. licheniformis* の細胞に極低温ストレスを与えると、PGA 生産性の増大と本形質の安定化が望めることが示された⁷⁾。筆者らは、納豆菌の PGA 合成酵素複合体の PGA トランスポータにあたる PgsA 成分のフォールディングや膜移行には、低温ストレスの負荷が重要であることを見いだした⁴⁾。また、納豆菌の起源は中国の乾燥した高山地域ともいわれている。想像の域を出ないが、もともと耐冷化のために PGA を生産していた *Bacillus* 属細菌の一群が、時を経て広く温暖な地域に伝播し、納豆菌として利用されるようになったという見方もあながち間違いでもないように思われる。

単にグルタミン酸が連なったポリマーが、これほどまでの機能性を示すのは驚くべきことである。また、その機能を巧みに利用して極限環境に適応している微生物に対して、畏怖の念を抱かずにはいられない。今世紀中に

人類が直面するであろう環境問題と食糧不足に対し、画期的な解決法を生み出せるかどうかは、ひとえにこのような微生物の巧みな生き残り戦略をどこまで理解できるか、そしてどのように応用するかにかかっている。

- 1) I. Uchida, S. Makino, C. Sawamura, M. Yoshikawa, C. Sugimoto & M. Terakado : *Mol. Microbiol.*, **9**, 487 (1993).
- 2) R. Aono, M. Ito, & T. Machida : *J. Bacteriol.*, **181**, 6600 (1999).
- 3) M. Ashiuchi, C. Nawa, T. Kamei, J.-J. Song, S.-P. Hong, M.-H. Sung, K. Soda, T. Yagi & H. Misono : *Eur. J. Biochem.*, **268**, 5321 (2001).
- 4) M. Ashiuchi & H. Misono : in "Biopolymers vol. 7", ed. by A. Steinbüchel, Wiley-VCH, 2002, in press.
- 5) F.F. Hezayen, B.H.A. Rehm, R. Eberhardt & A. Steinbüchel : *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **54**, 319 (2000).
- 6) J. Weber : *J. Biol. Chem.*, **265**, 9664 (1990).
- 7) G.A. Birrer, A.M. Cromwick & R.A. Gross : *Int. J. Biol. Macromol.*, **16**, 265 (1994).

(芦内 誠, 味園春雄, 高知大学農学部)



ゲノム DNA のメチル化はどのように調節されるか 明らかになりつつあるメチル化酵素の役割

原核生物から真核生物のヒトに至るまで、一部の例外を除いて、生理的な条件の下でシトシンの 5 位がメチル化修飾を受けることが知られている。このシトシンのメチル化修飾は 50 年以上前に仔ウシ胸腺で見つかった¹⁻³⁾。高等真核生物ゲノム DNA のシトシンのメチル化は、原核生物における生体防御機構とは違い、遺伝子の転写抑制と密接にリンクしている。ここでは特に、脊椎動物の DNA メチル化について概説したい。

脊椎動物のゲノム DNA では CpG 配列があると、マウスで 80% がメチル化修飾を受けている。このメチル基は、S-アデノシルメチオニンから DNA メチルトランスフェラーゼ (Dnmt) の働きで転移される。マウスのゲノムを俯瞰してみると、島状に (G+C) 含量の高い領域が散在し、多くの場合ハウスキーピング遺伝子のプロモーターとなっていて、低メチル化状態にある。一般に、転写されている遺伝子のプロモーター領域は低メチル化状態にあり、不活性化遺伝子は高度にメチル化されている。このことから、脊椎動物での DNA のメチル化は、遺伝情報の発現抑制機構として機能していると考えられる。しかし一方では、進化の過程でゲノムに取り込まれた *Alu* や *LI* などのレトロトランスポゾンを押え込む、

一種の生体防御に限定して機能しているとの意見もある。いずれが正しいにせよ、DNA のメチル化修飾は厳然として存在し、それを乱すことにより様々な機能不全が誘起されることには間違いがない。また、哺乳類で特徴的に観察される、ゲノムインプリンティング (遺伝子刷込) や X 染色体の不活性化という、対立遺伝子の一方が特異的に不活性化される現象の決定因子として働いている。

遺伝子のプロモーター領域がメチル化されると転写は抑制されるが、この抑制機構には 2 通り考えられる。一つは、転写因子の結合モチーフがメチル化されると転写因子が結合できなくなる場合である。Myc, E2F や Ets などはこの例で、これらの因子は結合モチーフやその近くがメチル化されると DNA に結合できなくなる。ただ、生体内でこの阻害様式が働いているのかは明らかではない。

もう一つの抑制機構は、メチル化された DNA を特異的に認識して結合する蛋白質を介した転写抑制である。現在までに構造が明らかになっているメチル化 DNA 結合蛋白質には、MeCp2, MBD1, MBD2, MBD3, MBD4, Kaiso がある。Kaiso を除いて、いずれもメチル化された配列を認識して結合する相同領域 (MBD) をもってい